

## 前列地尔注射液包封率测定方法的比较研究

段玉龙<sup>1,2,3,4</sup>, 赵龙山<sup>1\*</sup> (1. 沈阳药科大学 药学院, 沈阳 110016; 2. 石家庄四药集团药物研究院, 石家庄 050000; 3. 化学药品无菌制剂产业技术研究院, 石家庄 050000; 4. 河北省大容量注射剂工程技术研究中心, 石家庄 050000)

**摘要:**目的 建立前列地尔注射液包封率测定方法,比较超滤离心法和微柱离心法测定前列地尔注射液包封率的差异,筛选最优方法。方法 高压均质法制备前列地尔注射液,采用不同截留相对分子质量的超滤管,通过筛选离心转速和时间,建立超滤离心法;以葡聚糖凝胶 SephadexG-50 制备微柱,采用离心洗脱方式分离包封和游离药物。通过建立大豆油和游离前列地尔的洗脱曲线,考察分离效果,同时考察不同洗脱溶剂之间的差异,筛选最优洗脱溶剂,建立微柱离心法,采用高效液相色谱法及柱后衍生装置测定药物含量,计算包封率。结果 超滤离心法测得三批前列地尔注射液的包封率在 98.6%~99.5%,微柱离心法测得包封率在 89.5%~91.3%。结论 超滤离心法包封率测定结果偏高,不适用于本品包封率的测定;采用甘油水溶液作为洗脱溶剂的微柱离心法,适用于本品包封率的测定。

**关键词:**前列地尔注射液;包封率;超滤离心法;微柱离心法

doi:10.11669/epj.2025.02.008 中图分类号:R917 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2025)02-0166-06

### Comparative Study on the Determination Method of Entrapment Efficiency of Alprostadil Injection

DUAN Yulong<sup>1,2,3,4</sup>, ZHAO Longshan<sup>1\*</sup> (1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Shijiazhuang Si Yao Group Pharmaceutical Research Institute, Shijiazhuang 050000, China; 3. Chemical Sterile Preparation Industry Technology Research Institute, Shijiazhuang 050000, China; 4. Hebei Province High Capacity Injection Engineering Technology Research Center, Shijiazhuang 050000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a method for determining the entrapment efficiency of alprostadil injection, compare the differences between ultrafiltration centrifugation and microcolumn centrifugation methods for determining the entrapment efficiency of alprostadil injection, and select the optimal method. **METHODS** High pressure homogenization method was used to prepare alprostadil injection. Ultrafiltration membrane with different molecular weights were used to establish the ultrafiltration centrifugation method by selecting the centrifugation speed and time. The micro column was prepared with Sephadex G-50, and the encapsulated and free drugs were separated by centrifugal elution. The separation effect was evaluated by establishing the elution curve of soybean oil and free alprostadil. At the same time, the difference between different elution solvents was investigated, the optimal elution solvent was screened, and the microcolumn centrifugation method was established. The drug content was determined by high-performance liquid chromatography and post column derivatization device, and the entrapment efficiency was calculated. **RESULTS** The entrapment efficiency of three batches of alprostadil injection measured by ultrafiltration centrifugation method ranged from 98.6% to 99.5%, while the entrapment efficiency measured by microcolumn centrifugation method ranged from 89.5% to 91.3%. **CONCLUSION** The results of the ultrafiltration centrifugation method for determining the entrapment efficiency are too high and not suitable for the determination of the entrapment efficiency of this product. The microcolumn centrifugation method using glycerol aqueous solution as the eluting solvent is suitable for the determination of the entrapment efficiency of this product.

**KEY WORDS:** alprostadil injection; entrapment efficiency; ultrafiltration centrifugation method; microcolumn centrifugation method

前列地尔是一种公认的内源性生理活性物质,前列地尔注射液是由日本大正制药株式会社开发的脂肪乳制剂,临床上用于改善慢性动脉闭塞症引起的四肢溃疡及静息疼痛;改善进行性全身性硬化症,系统性红斑狼疮,糖尿病引起的皮肤溃疡;改善振动

病外周血运障碍引起的自觉症状,以及外周循环神经运动功能障碍的恢复<sup>[1]</sup>。

前列地尔注射液属于载药脂肪乳(亚微乳),也属于脂微球,脂微球是一种以水包油型(O/W)乳剂为载体的一类微粒分散体系,在血液与组织中的分布

作者简介:段玉龙,男,硕士研究生 研究方向:药品质量控制及药物分析 \*通讯作者:赵龙山,男,教授,博士研究生导师 研究方向:纳米材料、仿制药一致性评价、中药药效物质基础与作用机制的研究工作 Tel:(024)43520571

与脂质体类似,具有不易失活和易于分布在血管受损部位的靶向作用特点,是一种新型的靶向药物制剂。脂微球稳定性较脂质体差,临床上曾一度出现由于不合理的给药方法,造成脂微球破乳,不仅失去靶向性难以发挥治疗作用,反而因为前列地尔的释放而刺激血管,导致注射臂静脉穿刺血管出现条索状红线、产生刺痛、颜面部潮红等不良反应。脂微球稳定性问题是其生产制备、贮藏过程中的最大障碍,也是导致其上市品种很少的主要原因。虽然已上市脂微球产品中暂未将包封率收入质量标准,但包封的药物与游离药物存在不同的体内特征,因此包封率是评价脂肪乳处方、工艺和质量的重要指标,也是其能否发挥高效、低毒等递送特性的关键<sup>[2]</sup>,开发与建立包封率测定方法,对制备安全、有效和质量可控的产品有着重要意义。常用的包封率测定方法有透析与反渗透法<sup>[3]</sup>、葡聚糖凝胶柱法<sup>[4]</sup>及超速离心法<sup>[5]</sup>等。

前列地尔注射液规格为 1 mL:5  $\mu\text{g}$  和 2 mL:10  $\mu\text{g}$  2 种,前列地尔紫外为末端吸收,常温条件下稳定性差。因此透析与反渗透法和葡聚糖凝胶柱法这 2 种需要大量介质和洗脱溶剂的方法不适用本品包封率的测定。较强的离心力会导致脂肪乳破乳,包封率测定结果会比真实值偏低,因此超速离心法也不适用于本品包封率的测定。微柱离心法结合了葡聚糖凝胶柱法和离心法的双重优势,可实现制剂中包封药物和游离药物的快速分离<sup>[6]</sup>。文献<sup>[7]</sup>报道采用超速离心法测定前列地尔注射液的包封率。作者建立了微柱离心法及超速离心法测定前列地尔注射液的包封率,2 种方法测定结果差异较大,最终选择微柱离心法测定前列地尔注射液的包封率。

## 1 仪器与材料

LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);柱后衍生装置(美国 Waters 公司);TGL-20000-CR 型离心机(上海安亭科学仪器厂);6100 蒸发光散射检测器(美国奥泰公司);100000,30000,10000 超滤管(美国 Merck 公司);葡聚糖凝胶 Sephadex G-50(美国 GE 公司);前列地尔对照品(中国食品药品检定研究院批号:140659-201805 含量:99.0%);大豆油(浙江田雨山药用油有限公司);油酸(南京威尔药业集团股份有限公司);氢氧化钠(湖南尔康制药股份有限公司);蛋黄卵磷脂(丘比株式会社精细化工总部五霞工厂);甘油(湖南尔康制药股份有限公司);空白乳(自制,批号:22112601),前列地尔注射液(自制,批号:

22120161,22120361,22120561),色谱纯甲醇、乙腈;水为超纯水;其余均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 前列地尔注射液的制备

取适量的注射用水,预热至 65~75  $^{\circ}\text{C}$ ,加入甘油 22.1 g、氢氧化钠 3.6 mg,搅拌使溶解,作为水相。取大豆油 100 g 加热至 65~75  $^{\circ}\text{C}$ ,加入蛋黄卵磷脂 18 g、油酸 2.4 g 搅拌使溶解,然后加入前列地尔 5 mg 搅拌溶解,作为油相。高速搅拌混合约 3~5 min,制得初乳,剩余水相定容至 1 000 mL。将初乳经高压均质机进行均质,70 000 kPa 均质 3 次,制得精乳,充氮灌装、熔封,将样品置于高压灭菌锅内灭菌<sup>[8]</sup>。空白乳同法制得。

### 2.2 分析方法验证

**2.2.1 色谱条件<sup>[9]</sup>** 色谱柱:Waters XBridge C<sub>18</sub>(4.6 mm $\times$ 250 mm,5  $\mu\text{m}$ );以 0.0 067 mol $\cdot$ L<sup>-1</sup>磷酸盐缓冲液(pH 为 6.3)(取磷酸二氢钾 9.07 g,加水使溶解,制成 1 000 mL,另取无水磷酸氢二钠 9.46 g,加水使溶解,制成 1 000 mL,将后者加到前者中,直至 pH 为 6.3,取此液 100 mL 加水至 1 000 mL,摇匀,即得)-乙腈(75:25)为流动相;流速 1 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>;柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ ;波长 278 nm;柱后反应液为 1 mol $\cdot$ L<sup>-1</sup>氢氧化钾溶液,柱后反应管为聚四氟乙烯管(0.5 mm $\times$ 10 m),柱温 60  $^{\circ}\text{C}$ ,进样体积 50  $\mu\text{L}$ 。

**2.2.2 专属性考察** 精密量取空白乳和前列地尔注射液各 0.5 mL,分别置 5 mL 棕色量瓶,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀。配制 0.50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的前列地尔对照品溶液,分别进样分析,结果见图 1。由图 1 可知,药物峰形良好,辅料对药物测定无干扰,结果表明,本方法测定前列地尔的含量专属性良好。

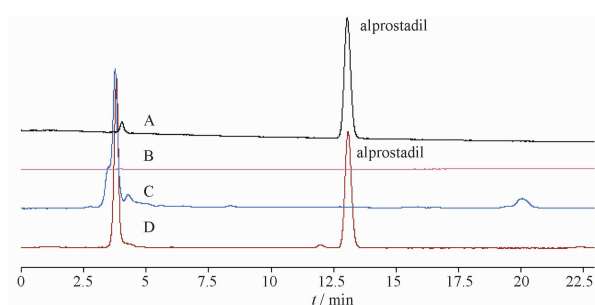


图 1 前列地尔对照品溶液(A)、空白溶剂(B)、空白乳溶液(C)、供试品溶液(D)的液相色谱图

Fig. 1 The HPLC chromatograms of alprostadil reference substance solvent(A), blank solvent(B), blank milk solvent(C), test solvent (D)

**2.2.3 线性范围考察** 配制质量浓度为 0.01、0.10、0.25、0.40、0.50、0.75、1.00  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  对照品溶液。分别进样分析,记录峰面积。以峰面积( $A$ )对质量浓度( $\rho$ )进行线性回归得线性方程为  $A = 42\,370\rho + 142$ , 相关系数  $r = 1.0\,000$ 。表明前列地尔在 0.01 ~ 1.00  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  内与峰面积呈良好线性关系。

**2.2.4 定量限试验** 精密量取“2.2.3”项下 0.01  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的对照品溶液,逐级定量稀释,进样检测,以信噪比( $S/N$ )约为 10 的浓度为定量限浓度,平行稀释 6 份。定量限为 0.0049  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 6 份定量限溶液的 RSD 为 2.4% ( $n = 6$ )。

**2.2.5 仪器精密度试验** 取“2.2.3”项下质量浓度为 0.50  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液,连续进样 6 次,峰面积的 RSD 为 0.55%,表明方法仪器精密度良好。

**2.2.6 重复性试验** 精密量取前列地尔注射液 0.5 mL,置 5 mL 棕色量瓶,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液,平行配制 6 份。同时配制 0.50  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的前列地尔对照品溶液,分别进样分析。6 份供试品溶液前列地尔的平均含量为:101.4%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 0.94% ( $n = 6$ )。表明方法重复性良好。

**2.2.7 中间精密度试验** 于不同时间,采用不同仪器,由第二人平行制备 6 份供试品溶液,实验过程同“2.2.5”,测定前列地尔的含量。不同人员 12 份供试品溶液前列地尔的平均含量为:100.7%,RSD 为 1.4% ( $n = 12$ )。表明方法中间精密度良好。

**2.2.8 加标回收率试验** 取空白乳 0.5 mL,置 5 mL 棕色量瓶中,再分别加入低(2  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )、中(2.5  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )、高(3  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )3 个质量浓度的前列地尔溶液 1.0 mL 各 3 份,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,分别作为相当于供试品溶液浓度 80%、100%、120% 的加标回收率溶液。9 份样品的平均回收率为 100.9%,RSD 为 1.3% ( $n = 9$ )。表明方法准确度良好。

**2.2.9 溶液稳定性试验** 取“2.2.6”项下质量浓度为 0.50  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的前列地尔对照品溶液及供试品溶液,室温放置分别于 0、2、4、6、8、12 h 进样。前列地尔对照品溶液及供试品溶液室温放置 4 h,不同时间进样峰面积的 RSD 分别为 0.59%、0.94%,前列地尔对照品溶液室温放置 8 h,供试品溶液室温放置 6 h,不同时间进样峰面积的 RSD 分别为 1.8%、1.7%。随着放置时间增长,前列地尔对照品溶液及供试品溶液中前列地尔的峰面积均有下降趋势,说

明前列地尔稳定性较差,建议配制后 4 h 内进样。

## 2.3 超滤离心方法建立

**2.3.1 超滤离心法条件确定** 2 mL 去离子水在 10 000 超滤管中 3 000 ~ 8 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 ~ 30 min,仅有 0.2 ~ 1.0 mL 去离子水被离心至超滤管外管中。在截留相对分子质量为 30 000 的超滤管中 8 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 20、30 min 后,去离子水可 100% 完全离心到续滤液中。在截留相对分子质量为 100 000 的超滤管中 3 500  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 30 min,去离子水可 100% 完全离心到超滤管外管中。然而对于供试品溶液,经 30 000 超滤管,8 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 45 min,仅有 1.0 mL 水相被离心至超滤管外管中,离心后供试品流动相性良好;采用 100 000 超滤管,7 500  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 30 min,续滤液中可见 180 nm 的粒子,而 5 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 45 min,续滤液中无纳米粒子,离心后的供试品溶液几乎无流动相性。该结果说明 100 000 超滤管,于 5 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 45 min,是分离游离前列地尔和包封前列地尔的最佳条件。

**2.3.2 测定方法** 精密量取前列地尔注射液 2 mL,置 20 mL 棕色量瓶,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,在“2.2.1”项色谱条件下,测定本品的总含量为  $C^{[10]}$ ;精密量取前列地尔注射液 2 mL,置 100 000 超滤管中,于 5 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 2 ~ 8  $^{\circ}\text{C}$  离心 45 min,取超滤管外滤液作为游离前列地尔,按“2.2.1”项色谱条件下,测定本品中游离前列地尔的含量为  $C_1$ ,按公式 1 计算包封率。

$$\text{包封率}(\%) = (C - C_1) / C \times 100\% \quad (\text{公式 1})$$

**2.3.3 游离药物回收率试验** 分别配制含前列地尔 0.25、0.50、1.00  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液,相当于包封率为 95%、90%、80% 的游离前列地尔浓度,每个质量浓度制备 3 份,分别取 2.0 mL 溶液置于 100 000 超滤管中,于 5 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 2 ~ 8  $^{\circ}\text{C}$  下离心 45 min,计算回收率,不同质量浓度游离前列地尔回收率在 11.2% ~ 20.7%,将离心后的超滤膜用无水乙醇超声提取,提取液中可以检测到较高浓度的前列地尔,说明超滤膜对低浓度前列地尔有较强吸附。

## 2.4 微柱离心方法建立

**2.4.1 大豆油含量测定方法** 采用《中国药典》2020 年版脂肪乳注射液( $C_{14-24}$ )<sup>[11]</sup>标准中大豆油含量测定方法,色谱条件:用硅胶为填充剂(Alltima Silica 4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$  或效能相当的色谱柱),以正己烷-异丙醇-冰醋酸(98.9:1:0.1)为流动相,流速 1.0  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ,检测器为蒸发光散射检测器(雾化气流速为 2.5  $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ ,漂移

管温度为 65 ℃);进样体积 20 μL。

**2.4.2 微柱的制备** 将用水充分溶胀的 Sephadex G-50, 填充至 5 mL 注射器内, 以 2 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 2 min, 使凝胶柱脱水, 使形成填充高度约为 4 mL 的微柱待用。

**2.4.3 甘油水溶液对游离药物的洗脱** 精密称取前列地尔约 5 mg, 用无水乙醇溶解, 并用流动相稀释制成每 1 mL 约含 2.5 μg 的溶液, 作为游离药物溶液。取 0.5 mL 游离药物溶液加于微柱上端, 2 000 r · min<sup>-1</sup>, 离心 2 min 后, 加 0.5 mL 22.1 mg · mL<sup>-1</sup> 甘油水溶液于微柱上端, 2 000 r · min<sup>-1</sup>, 离心 2 min, 收集洗脱液, 作为洗脱液 1。共加 22.1 mg · mL<sup>-1</sup> 甘油水溶液洗 12 次, 收集的洗脱液依次编号为 1~12 次。取各次洗脱液, 按“2.2.1”项下的色谱条件, 测定前列地尔的含量, 绘制洗脱曲线见图 2, 结果表明, 游离前列地尔在前 3 次洗脱几乎没有被洗脱出柱, 从第 4 次开始被大量洗脱出柱。洗脱 12 次, 游离前列地尔的累积洗脱百分比即达到 98% 以上, 洗脱完全。

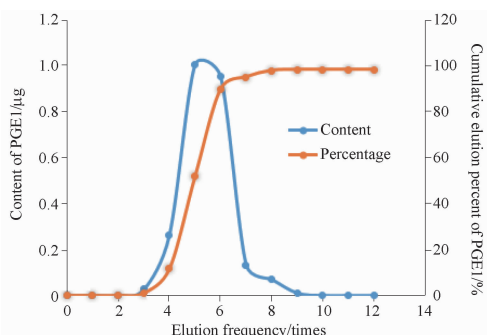


图 2 前列地尔游离药的洗脱曲线

Fig. 2 Elution curve of alprostadil free drug

**2.4.4 甘油水溶液对包封药物的洗脱** 取前列地尔注射液 0.5 mL, 加在微柱上端, 按“2.4.3”项下操作, 取各次洗脱液, 分别用正己烷-异丙醇(1:1)及流动相制成适宜浓度的供试品溶液。按“2.4.1”项下色谱条件测定大豆油的含量, 绘制洗脱曲线见图 3, 结果表明, 大豆油在前 3 次洗脱液中已基本已全部流出, 累积洗脱百分比即达到 98% 以上, 即说明洗脱 3 次 98% 以上的包封药物已被洗脱出柱。

**2.4.5 测定方法** 精密量取前列地尔注射液 0.5 mL, 置 5 mL 棕色量瓶, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 按“2.2.1”项下色谱条件, 测定本品的总含量为 C; 精密量取前列地尔注射液 0.5 mL 加于微柱上端, 2 000 r · min<sup>-1</sup>, 离心 2 min 后, 每次用

0.5 mL 22.1 mg · mL<sup>-1</sup> 甘油水溶液洗, 共洗 3 次, 合并洗脱液, 将洗脱液转移至 5 mL 棕色量瓶, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 按“2.2.1”项下色谱条件, 测定本品中包封前列地尔的含量为 C<sub>1</sub>, 按公式 2 计算包封率。

$$\text{包封率}(\%) = C_1/C \times 100\% \quad \text{公式(2)}$$

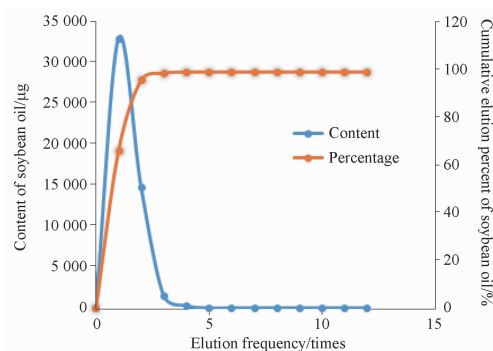


图 3 大豆油的洗脱曲线

Fig. 3 Elution curve of soybean oil

**2.4.6 洗脱溶剂筛选** 按“2.4.5”项下测定方法, 分别考察洗脱溶剂为水、22.1 mg · mL<sup>-1</sup> 甘油水溶液、5% 葡萄糖溶液及 0.9% NaCl 溶液对包封率测定结果的影响, 包封率测定结果见表 1, 结果表明, 采用 22.1 mg · mL<sup>-1</sup> 甘油水溶液作为洗脱溶液测得的包封率最高, 优选甘油水溶液作为洗脱溶液。

表 1 不同洗脱溶剂对包封率测定结果的影响

Tab. 1 Measurement results of entrapment efficiency of different eluting solvents

Elution solvent	Entrapment efficiency/%
Water	83.2
22.1 mg · mL <sup>-1</sup> Glycerin aqueous solution	90.6
5% Glucose	84.3
0.9% NaCl solution	70.1

## 2.5 微柱离心法方法验证

**2.5.1 柱回收率试验** 分别上样前列地尔注射液, 低(0.4 mL)、中(0.5 mL)、高(0.6 mL)3 种体积, 按“2.4.5”项下方法, 测定其中前列地尔含量(C<sub>1</sub>), 每种上样量各平行实验 3 份。平均柱回收率为 98.9%, RSD 为 1.2% (n=9), 方法的回收率良好。

**2.5.2 加样回收率试验** 取前列地尔注射液, 按 0.45、0.50、0.55 mL 3 种体积上样量, 再分别依次上样质量浓度分别为 20、10、5 mg · mL<sup>-1</sup> 的溶液各 50 μL, 作为低、中、高浓度的加标样品, 每个质量浓度 3 份, 按“2.4.5”项下方法, 测定其中前列地尔含

量;另按“2.4.5”项下方法,测定本批次产品中包封前列地尔的含量,计算加样回收率,结果见表2,平均回收率98.4%,RSD为1.5%( $n=9$ ),方法准确度良好。

表2 微柱离心法加标回收率测定结果。 $n=9$

Tab.2 Determination results of spiked recovery rate by micro column centrifugation method.  $n=9$

Number	$m(\text{Added})/\mu\text{g}$	$m(\text{Measured})/\mu\text{g}$	Recovery/%
1	2.039	2.014	98.80
2	2.039	1.976	96.93
3	2.039	2.016	98.90
4	2.265	2.213	97.70
5	2.265	2.303	101.68
6	2.265	2.234	98.63
7	2.492	2.432	97.61
8	2.492	2.405	96.53
9	2.492	2.458	98.66

## 2.6 前列地尔注射液包封率测定

取不同批号的前列地尔注射液3批,分别采用超滤离心法(按“2.3.2”项下测定方法)和微柱离心法(按“2.4.5”项下测定方法)测定包封率,每个批号平行测定2份。结果见表3。

表3 前列地尔注射液包封率测定结果。 $n=2$

Tab.3 Results of entrapment efficiency of alprostadil injection.  $n=2$

Method	Batch No.	Entrapment efficiency/%
Ultrafiltration centrifugation method	22120161	99.1
	22120361	99.5
	22120561	98.6
Microcolumn centrifugation method	22120161	90.6
	22120361	91.3
	22120561	89.5

## 3 讨论

洗脱和超滤样品中前列地尔含量的测定方法参考前列地尔注射液国家药品标准 WS1-(X-041)-2002Z-2008 项下含量色谱条件。由于前列地尔结构中无共轭体系,故紫外为末端吸收,并且吸收很弱,为提高紫外的吸收强度,方法采用了柱后衍生的方式,作者在此方法基础之上,增大了进样体积,提高了方法的灵敏度、优化后的方法经验证,专属性,灵敏度及准确度等均良好,可以用于洗脱和超滤样品中前列地尔含量的测定,但前列地尔稳定差,对照品溶液和供试品溶液室温放置

过程中峰面积呈明显下降趋势,但室温放置4h,不同时间点峰面积的RSD<1.0%,因此建议样品配置后4h内进样。

通过对超滤膜的截留相对分子质量和超滤时间及转速(离心力)的筛选,建立了分离包封药物和游离药物的超滤离心法,但在对游离药物的回收率考察时,发现超滤膜对低浓度的前列地尔有较强吸附作用,因此超滤离心法在分离包封和游离药物时,由于超滤膜的吸附作用会导致游离药物的浓度低于实际值,此法测定的包封率偏高。如预先采用低浓度的前列地尔溶液饱和超滤膜可减少超滤膜在分离时对游离药物的吸附情况,但前列地尔注射液规格小仅为2 mL:10  $\mu\text{g}$ ,样品中游离前列地尔浓度更低,预饱和超滤膜的方式会使方法的准确度和重复性受到影响,因此作者未进行更深入的研究。另外前列地尔注射液略带黏性,采用超滤离心法,需要相对较大的离心力和较长的离心时间才能将包封与游离药物分离,前列地尔微溶于水,在较大的离心力下,理论上会导致脂肪乳中前列地尔向外水相中扩散。综上分析超滤离心法无法准确测定前列地尔的包封率。

通过对包封率常用方法的分析同时结合相关文献,作者采用 Sephadex G-50 制备微柱,通过对离心转速(离心力)、离心时间、洗脱溶剂种类及洗脱次数的筛选建立了微柱离心法,绘制了游离药物和包封药物的洗脱曲线,更为直观地反映了包封药物与游离药物的分离情况。为准确地判断包封药物与游离药物的分离情况,文献中多采用定磷法或浊度法来辅助判断包封药物的洗脱情况<sup>[12]</sup>。由于磷脂为混合物,含量低,测定过程中受其他成分的干扰较大<sup>[13]</sup>,方法准确度较差。浊度法可以用来判断包封药物是否被洗脱出柱,但无法定量包封药物洗脱出柱的比例。本研究通过测定洗脱过程中脂肪乳中大豆油含量变化情况,间接反映包封药物的洗脱情况,相对于以上两种方法,本方法更便捷,更准确<sup>[14]</sup>。微柱离心法可以很好地避免由于样品处理过程中溶剂的引入而引起前列地尔由脂肪乳向外水相扩散的问题。为增加包封药物的稳定性,降低洗脱过程对包封率的影响,本研究考察了水及不同等渗洗脱溶剂对包封率的影响,其中0.9% NaCl 溶液对包封率的影响最大,分析认为0.9% NaCl 溶液通过影响乳粒的表面电荷,导致包封率有所降低。作者采用了暂无文献报道的脂肪乳外水相 22.1 mg · mL<sup>-1</sup> 甘油

水溶液作为洗脱溶剂,该溶剂不会影响乳粒的表面电荷,可以提供等渗条件,同时甘油水溶液可以增加脂肪乳的稳定性,相对于其他洗脱溶剂,测定结果显示采用  $22.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  甘油水溶液作为洗脱溶剂最优。

#### 4 结 论

超滤离心法由于需要较大离心力及较长离心时间,理论上会增加脂肪乳中前列地尔向外水相中扩散的风险,同时超滤膜对低浓度前列地尔吸附作用明显,导致测得包封率结果偏高,不能准确反映本品的包封率,该方法不适用于本品包封率的测定。本文建立了微柱离心法测定前列地尔注射液的包封率,本方法洗脱剂用量小,离心转速低,对包封药物和游离药物洗脱完全,可以有效避免超滤离心法的缺点,优选的  $22.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  甘油水溶液作为洗脱溶剂,可以最大程度地降低洗脱过程对包封率的影响,方法操作简单,制备的微柱可以重复多次使用,经验证方法准确度良好,可以用于前列地尔注射液的包封率的测定。

#### REFERENCES

[ 1 ] QIN X H, CHANG X H, GAN L, *et al.* Study on the Inspection Method of Related Substances in Alprostadil Injection [J]. *Shanghai Med Pharm J*(上海医药), 2021, 42(19): 74-78.

[ 2 ] DONG W J, YE J, WU C Y. Progress in Quality Control of Drug loaded Fat Emulsion [J]. *China Food Drug Adm Mag*(中国食品药品监管), 2019, (10): 34-40.

[ 3 ] QU C H, YIN X B, ZHANG H, *et al.* Comparison of methods for determining the encapsulation efficiency of isopropylidene shikimic acid liposomes [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2013, 19(1): 21-24.

[ 4 ] ZHAO F, LUAN H S, LUO H F, *et al.* Determination of entrap-

ment efficiency of nanoparticles by dextran gel chromatography [J]. *Chin Pharm J*(中国药理学杂志), 2012, 47(17): 1385-1390.

[ 5 ] TOUTOU E, DAYAN N, BERGELSON L, *et al.* Ethosomes-novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties [J]. *J Controlled Release*, 2000, 65: 403.

[ 6 ] LI J, YAO L, CHEN W, *et al.* Determination of entrapment efficiency of neogambogic acid poly(lactide glycolic acid copolymer) nanoparticles by self-made dextran gel micro column [J]. *J Anhui Tradit Chin Med Coll*(安徽中医学院学报), 2013, 32(6): 77-80.

[ 7 ] HEI Y, MA S, LI X N, *et al.* Comparative study on the physico-chemical properties of three new formulations of prostaglandin [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2017, 26(10): 1174-1179.

[ 8 ] YU J. Preparation of dexamethasone palmitate fat emulsion injection[J]. *China Pharm*(中国药师), 2016, 19(12): 2262-2266.

[ 9 ] SFDA. WS1-(X-041)-2002Z-2008. Quality standard for alprostadil injection[S]. 2008.

[ 10 ] CHANG H M, SHI Y, YOU H H, *et al.* Determination of Prostaglandin  $A_1$  and Prostaglandin  $A_1$  in Prostaglandin Injection by Direct Dilution Method [J]. *J China Prescr Drug*(中国处方药), 2020, 18(8): 35-37.

[ 11 ] *Ch. P*(2020) Vol II(中国药典2020年版. 二部) [S]. 2020: 1402-1405.

[ 12 ] CHEN X C, GUO Y S, SONG F, *et al.* Determination of encapsulation efficiency of water-soluble drug liposomes by microcolumn centrifugation combined with changes in cholesterol concentration [J]. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), 2014, 31(11): 851-855.

[ 13 ] ZHANG H F, LU Y. Study on the Detection Method of Lecithin in Soybean Phospholipids [J]. *China Oil*(中国油脂), 2007, 32(7): 70-73.

[ 14 ] GONG X F, XU J M, XIA X J, *et al.* Determination of encapsulation efficiency of paclitaxel fat emulsion using microcolumn centrifugation method [J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2017, 37(11): 1967-1972.

(收稿日期:2023-08-17)